

# グルコサミンの新機能 (骨，軟骨を中心に)

和田政裕

城西大学薬学部教授

グルコサミン研究 4  
2008年9月発行 別刷

Reprinted from  
Glucosamine Research 4

# グルコサミンの新機能 (骨, 軟骨を中心に)

和田政裕

城西大学薬学部教授



## なぜ、グルコサミンは軟骨に有効なのか

城西大学の和田でございます。このたびは、城西大学でグルコサミン研究会第2回研修会を開かせていただきましてありがとうございます。みなさんに活発な議論をしていただければ幸いに存じます。

それではさっそく講演のほうに入らせていただきます。本日は、「グルコサミンの新機能」に関して、お話しさせていただきます。

グルコサミンを摂取することが、変形性関節症などにかなり有効であることが、すでにわかってきています。しかし、そのメカニズムについては、なかなか明らかにならないという点もあります。

今回、DNA マイクロアレイ（ガラスやシリコンの基盤上にDNA分子を高密度に配置し、数千から数万種の遺伝子発現を一度に観察することが可能なデバイス）によって食品の生体調節機能を検索する研究のなかで、グルコサミンの新たな機能についてだいわ

かってきました。そのようなことを、本日はご紹介できればと思っております。

まず最初に「グルコサミンが軟骨細胞の機能制御に与える影響」についてです。なぜ軟骨にグルコサミンは有効であるのかということです。

グルコサミン自体が軟骨基質を構成するグリコサミノグリカンの基本構成糖の一つであるということから、多くの場合、軟骨基質に関する研究がされてきました。われわれが研究を進めてきた結果、そうした基質に関すること以外にも、新たな機能があるのではないかとわかってきました。そういったことをご紹介できればと思います。

図1は、関節における軟骨の構造、骨の構造を表したものです。関節は「関節軟骨」とその下にある「骨」の部分から構成されています。骨の部分は石灰化していますが、軟骨の部分は石灰化していません。骨の場合は、その生成過程においては軟骨の部分が石灰化して、その部分が骨になっていくというような状況になっています。一方、軟骨が石灰化せず維持されるの

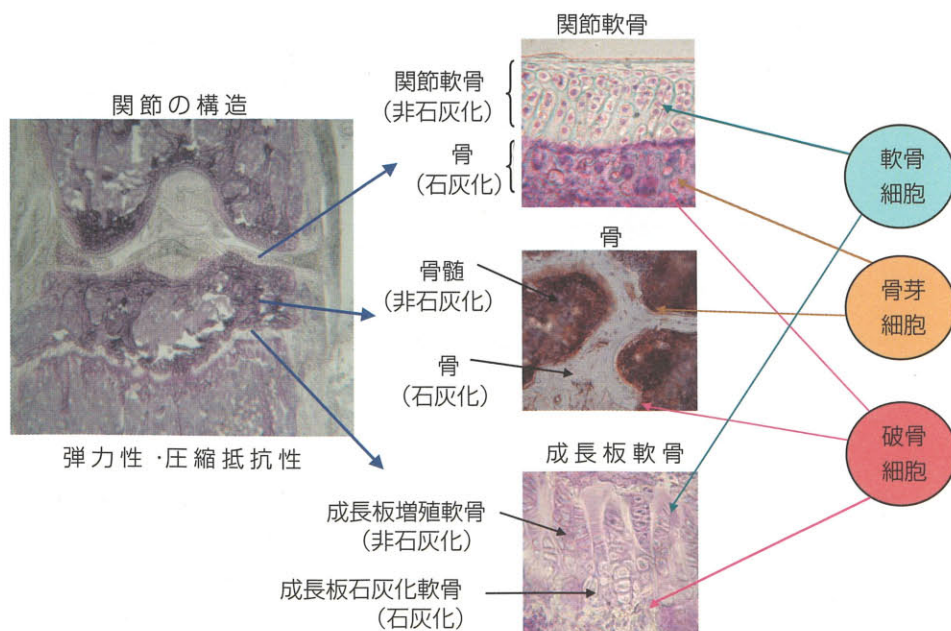


図1 関節の構造

が「軟骨組織」です。ここに明確な違いがあるのですが、この部分にグルコサミンはどう関与しているのかということ詳しく調べてきました。

## 同じ石灰化でも、骨と軟骨では正反対の評価が

骨の基質は、Ca, Pi (リン酸), Mgなどの石灰化構造とコラーゲンによって形作られています。軟骨の場合は、みなさんご存知のように、グリコサミノグリカンが中心となって軟骨基質を形成し、そのなかにコラーゲンが骨組みのような形となり軟骨が形成されています。

一部の変形性関節症などの軟骨の病変では、こうした軟骨基質が一部石灰化して骨のように変性することによって、関節の機能的な障害が起こるなどいろいろな問題が出てきます。

われわれは最初、骨の研究をやっていたのですが、そのなかで軟骨は一体どうなっているのだろうかというところから、軟骨に興味をもち始めました。骨では、石灰化は、骨が発達していくために必ず必要となりプラスの効果として働きます。こうした場合は、もともと軟骨でできていたところが石灰化して骨になっていくことは、正常な状態です。

それに対して、異所石灰化というように、関節軟骨などで石灰化が起こると、変形性関節症や、喉などの場合は嚥下障害を引き起こします。ですから、同じ石灰化といっても、組織が違ふことによって、全く正反対な評価が行われるということです(図2)。

当初、われわれの石灰化の研究は、骨を中心にやっていました。いわゆる成長板軟骨が石灰化していく過程を、よく見ていたわけです。そのときに、老化の現象として、軟骨組織の石灰化を見出していたので、両方がどう違うのかということが、研究の最初のきっかけになっています。

正常な関節軟骨では、弾性や圧縮抵抗性が十分に備

わっています。それが、加齢や遺伝、疾病などの内部的要因、また、メカニカルストレスや外傷などの外部的要因によって変性をしていきます。最近では、食生活や運動習慣などの生活習慣要因なども、関係していることがわかっています。

こうした要因が影響して少しずつ関節軟骨が変性していくことより、石灰化や弾性の消失などが起こり変形性関節症に進行していきます。こういった状態のときには、軟骨の細胞数は減少し、異型細胞がみられ、細胞の並びも乱れてくるということが観察されています。

## グルコサミンは、細胞の機能や分化調節の維持に効果的に働くのか？

関節病変に対しては、いろいろな治療法がすでに行われています。そのなかで特に最近注目されているのが、グルコサミンです。グルコサミンを摂取することによって、軟骨の機能障害が改善される。このメカニズムはなかなか明確にならなかったのですが、飲んでいる人のなかで、実際に関節機能が改善するなど、非常に効果的だと体感している率が高かった。いわゆる健康食品としては、リピーター率が高かったわけです。そういった意味では、何らかのよい効果が行われているのだろう、ということは想像に難くないわけです。

どうしてグルコサミンが効くのかということを考えた場合、グルコサミンの成分が、軟骨基質の構成成分であるということが一つ考えられます。軟骨基質がダメになるのだったら、その基質の成分を与えてやれば正常化するのではないか、という考え方です。

もう一つの考え方は、われわれが考え始めたものです。一部の先生方も言っているかもしれませんが、グルコサミンの成分そのものが、細胞の機能維持や分化調節の維持に効果的に働いているのではないかと、あるいは、この両方が働いているのではないかとという作用仮説をもつに至りました。

つまり、単なる基質の問題だけではないのではないかと、何か調節にも関わっているのではないかと考えたわけです。サプリメントとして摂取したグルコサミンは最終的に関節の滑膜液中に到達する濃度が非常に薄いということが、他のチームの研究からわかっています。これは投与量の問題もありますが、非常に濃度が薄い状態でありながらも、関節に効果的に効くということです。この点にどうしてなのだろうという疑問が湧いたのです。

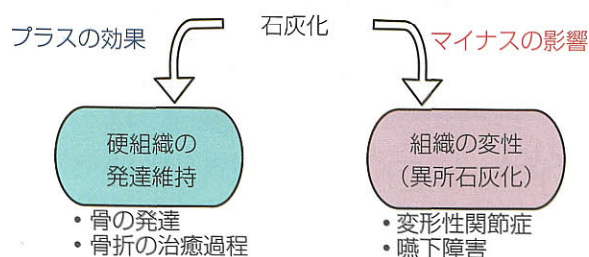


図2



基質の材料になるということなら、かなりの量が入っていかないと効かないのではないかと思ったわけです。しかし少量でも、多少効果が出てくる。そういった場合、グルコサミンが調節分子として働くのではないかと考えたほうが、合理的なのではないかと思ったわけです。

### 軟骨細胞を石灰化させない因子を探索

グルコサミンの基本的な構造は、アミノ糖の構造のグルコサミン、 $\text{NH}_2$ の形で遊離状態になっているものです。グルコサミンは、キチンというN-アセチルグルコサミンのポリマーを加水分解してつくることが一般に行われています。このアミノ基にアセチル基がくっついている状態のN-アセチルグルコサミンもあります。こうしたものがさまざまな形でくっついた誘導体がグルコサミンアナログとしていろいろあります。これらの誘導体のどれが、われわれの身体に効果的に働くのかということを検索してきました。

グルコサミンとN-アセチルグルコサミンの違いは、アセチル基がついているだけなのですが、実はこのアセチル基は、生体内ではなかなか外れないのです。つまり、生体内では流れが全然違う代謝を受けているということです。ですから生体内で、これらが相互に変換されることは、ほとんどありえない。そのあたりも研究の一つのヒントになっています。

われわれは、これを最初、細胞培養のモデル細胞を用いて検証しました。この時に用いた細胞が、前駆軟骨細胞株である「ATDC5」という細胞です。この細胞は、最初は前駆軟骨細胞で始まるのですが、分化していくに従って、石灰化していきます。最終的には完全に石灰化した状態で、アポトーシスを起こして骨の状態になってしまう直前までの一連の軟骨細胞の分化過程を再現できる細胞株です（図3）。

これは成長板軟骨の分化過程に近いですから、どちらかというと軟骨の研究よりも、骨の形成ということでよく使われていた細胞です。こういった細胞を骨の研究で使っていましたが、成熟軟骨の状態も経過するので、軟骨の研究にも使えるのではないかと考えて、実験を進めてきました。

子どもの骨が成長してしっかりした骨になるという研究をやるときは、この細胞株を使います。調節の早さや骨の形成を促進する成分を探していく研究にとっても便利な細胞です。実はこれは軟骨に使えるのではないかと考えました。「成熟軟骨細胞」に近い部分を、石灰化させないで、維持するような成分や因子を発見すれば、関節病変が阻止できるのではないかということです。われわれは「成熟軟骨細胞」の状態を維持するというので、この細胞を使ってきました（図4）。

「ATDC5」は、もともと骨や軟骨の研究で使われている細胞なので、関節軟骨の研究をされている方には馴染みがない細胞だと思いますが、この状態で維持させるというところで、評価系としては使用できるということです。これを使って、「成熟軟骨細胞」の状態で分化が止まるような因子を、われわれは検索してきました。

### グルコサミンは、軟骨細胞を維持させることに有効という結果

そこで、この細胞株にさまざまなグルコサミンのアナログを添加して、その増殖と分化の状態を観察するという実験を行いました。

増殖は、一般的に行われているようなMTTアクティビティで、グルコサミンで3日間培養したところで見ました。そして、5日目ぐらいのところでは分化の指標としてアルカリフォスファターゼ（ALP）をマーカーにして、「成熟軟骨細胞」を維持する可能性のある細胞外基質分子のスクリーニングを行ったわけで

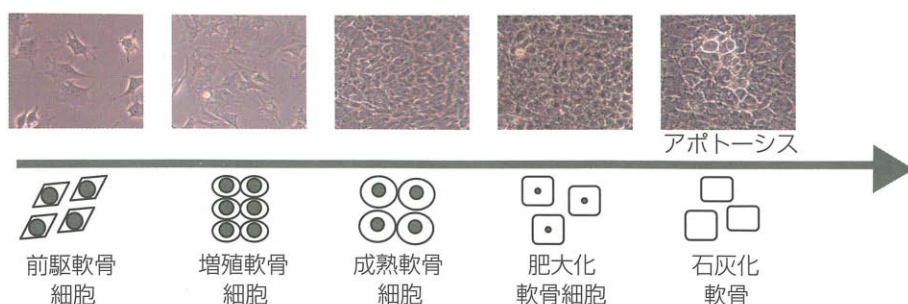


図3 内軟骨性骨化のモデル細胞「前駆軟骨細胞 ATDC5」

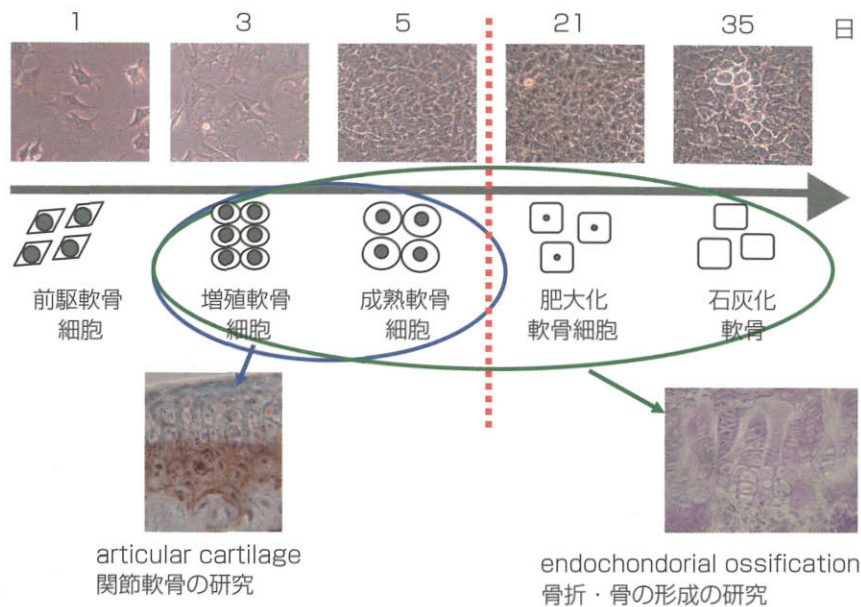


図4 ATDC5 を用いた関節軟骨細胞の機能制御に及ぼす細胞外基質分子スクリーニングの系

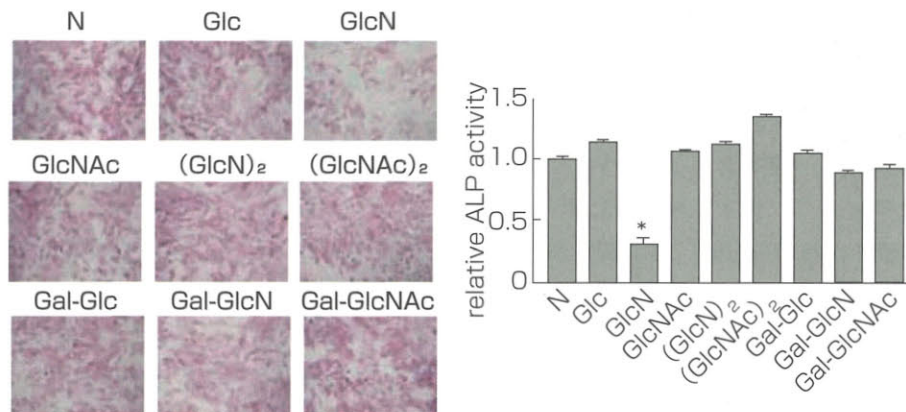


図5 グルコサミンとグルコサミンアナログが ATDC5 の分化に与える影響

す。石灰化する細胞は、その前にアルカリフォスファターゼの活性が上がってきますので、

その結果、グルコサミンも含めてグルコサミンアナログは軟骨細胞の増殖には影響を与えていませんでしたが、すべてのアナログのなかで唯一グルコサミンだけが、細胞の分化を止めるというか、分化させないで軟骨細胞を維持させる状態に有効でした。残念ながら軟骨の分化維持にはN-アセチルグルコサミンは全く効果がないということがわかりました。こういう細胞系での評価では、グルコサミンが有効であったということです(図5)。

このときに、軟骨基質の生成なども同時にみました。石灰化の進行はコントロールのグルコース、あるいは正常な細胞に比べて、著しく抑えられているという状態です。

しかし逆に、硫酸化したグリコサミノグリカンであ

る、コンドロイチン硫酸やケラタン硫酸の量は、むしろグルコサミン投与でかなり増えていました。なので、グルコサミンはコンドロイチン硫酸などを増加して軟骨細胞を維持しているということが、この細胞の評価系で示されたわけです(図6)。

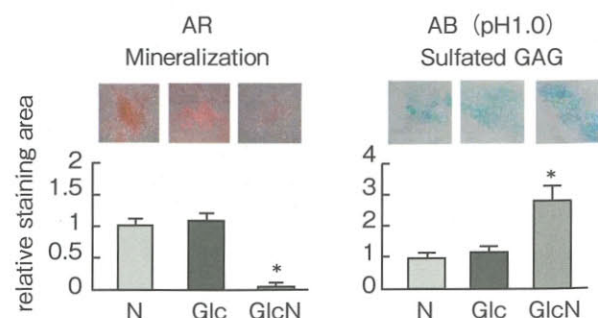


図6 グルコサミンが ATDC5 の石灰化とグリコサミノグリカン量に与える影響

## 転写調節因子を制御するシグナル分子として働くグルコサミン

どうしてこんなことが起きるのかを考察しました。そこで、マトリックスグラブタンパク質 (MGP) や BGP などの基質タンパク質の mRNA 量を量ってみました。MGP は石灰化抑制タンパク質で、石灰化しそうなところに発現してくるのですが、少なくとも MGP の発現量は、グルコサミンの投与で著しく抑えられていました。つまり、石灰化がほとんど進行していないということですね。したがって、この細胞では、グルコサミンが骨の状態にならないようにしているということがわかりました (図7)。

その理由をみるために、そういったことをコントロールする、いわゆる転写調節因子の mRNA を量ってみました。そして、グルコサミン投与で、軟骨に分化を促進させるといわれている Smad 2 や Smad 4 などの転写調節因子の遺伝子発現量が、低下しているという結果が出ました。しかし、軟骨分化に必須の転写因子である Sox 9 や Runx 1, Runx 2 などについては、差がないという結果でした (図8)。

そういったことで、軟骨の機能維持ということに、少なくともグルコサミンは効いている。ですから、グルコサミンが効くというのは、基質で効いているというほかに、こうした転写調節因子を制御するシグナル分子として働いているのではないかということが示されたわけです。グルコサミンは単なる基質ではなくて、どうも情報物質としても働いているのではないかということが、ここで考えられたわけです。

## グルコサミンの有効性が *in vivo* の実験でもわかる

当然これは細胞で行った実験なので非常に断片的な話でもあります。では、実際に生体内でどうなるのかということで、実際に動物を使って実験してみました。

関節病変のある動物をつくるために、エサにリンを過剰に加えて食べさせました。そうすると、骨もおかしくなるが、軟骨もかなりやられてしまいます。リンを過剰摂取させると、かなり軟骨がやられることを発見しまして、そういう状態にした動物にグルコサミンと N-アセチルグルコサミンを与えて、改善するかど

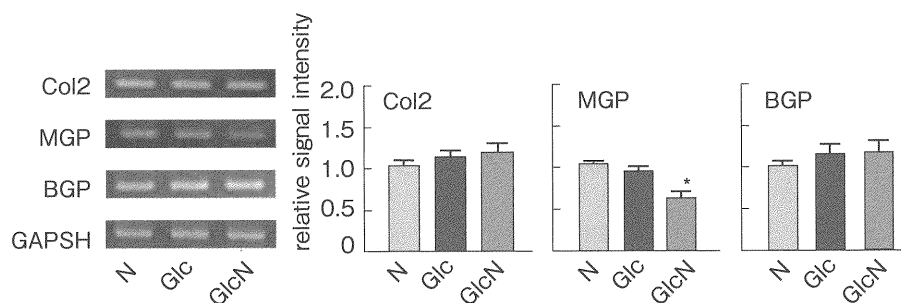


図7 グルコサミンが軟骨細胞外基質タンパク質の mRNA 発現レベルに与える影響

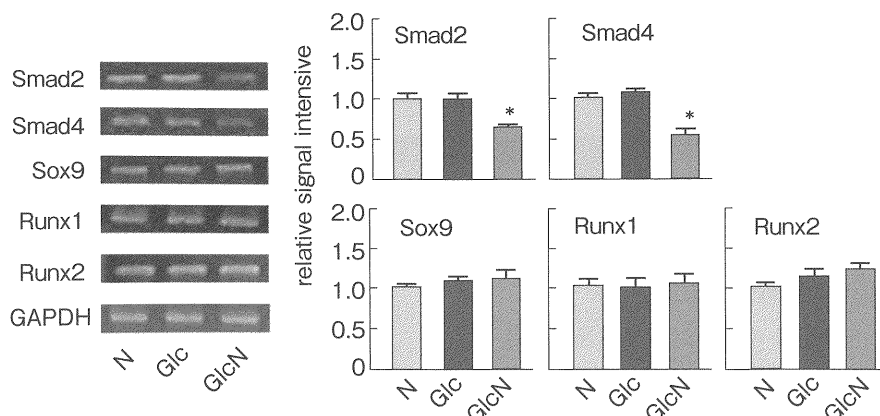


図8 グルコサミンが軟骨特異的転写調節因子の mRNA 発現レベルに与える影響



うかをみてみました。

硬組織の構造をマイクロCTによって見て、さらに切片を作製してヘマトキシリン染色によって軟骨の比較をしています。CTで見た場合は、骨組織だけが見えているわけですから、黒く抜けているところが軟骨組織と考えられます(図9)。

結果は、正常群に比べ、コントロール群は軟骨組織がかなり破壊されて薄くなっています。こういった動物に対してグルコサミンを与えますと、これが正常レベルに回復するということがわかりました。N-アセチルグルコサミンを加えた場合は、あまり効かなかったんですね。ですからATDC5の実験結果と生体内の実験で、かなりパラレルな結果が得られたということになります。グルコサミンが関節病変に本当に有効なのかということが、*in vivo*においてもわかったということです。

### 「DNA マイクロアレイ」を使って機能を解析

グルコサミンには、関節だけでなくそのほかにもいろいろな機能があることがわかってきています。そこで、それらの機能はどのようなものか、グルコサミン、N-アセチルグルコサミンはどのような違いがあるのかといったことが、一度でわかる方法はないだろうかという、たいへんものぐさな考え方に捕われました。そうしたことを考えているうちに、比較的新しい解析方法ですが、「DNA マイクロアレイ」というツールを使うと、かなり楽ができそうだと考えました。実際やってみたところ、たいへんおもしろい結果が出てきました。

グルコサミンの作用については、現在、いろいろ解明されてきています。たとえば、好中球に対して働い

て抗炎症作用を発揮し、痛みを和らげたり、いろいろな炎症を抑制することがわかってきています。また、軟骨に対して非常に効果があり、骨にも影響を与えるだろうということもわかってきました。N-アセチルグルコサミンの場合は、摂取するとお肌がきれいになる美白・美肌効果があるのではないかなどといわれています。

グルコサミンとN-アセチルグルコサミンには、こうした違いや共通部分がある。こうしたところがもう少し明確にわからないだろうかということで、「DNA マイクロアレイ」を使いました。この機器は、遺伝子の発現を網羅的に解析します。すべての遺伝子の発現状況、増加しているかあるいは抑制されたかということ、一度にみてしまう方法で検討してみたわけです。

### 肝臓と皮膚のRNAを抽出して解析

実験方法を簡単に説明しますと、グルコースを与えたコントロール群と、餌の中に0.02%のN-アセチルグルコサミンを入れた群、0.02%のグルコサミンを入れた群とに分けました。この3群で21日間餌を食べて飼育し、21日後に動物を解剖して肝臓を摘出して、その肝臓から全RNAを抽出して、RNAの網羅的解析をマイクロアレイを使って行いました。

統計学的な解析は、スポットファイヤーという支援ソフトを使い、もう一つはバイオインフォマティクス解析を行うためのネットワーク予測には、キーマルネットという支援ツールを使いました(図10)。

クラスター解析の結果、肝臓では、グルコースとN-アセチルグルコサミンは似た変化を示していたという結果が出てきました。それからグルコースとN-アセチルグルコサミンに対してグルコサミンは、実は

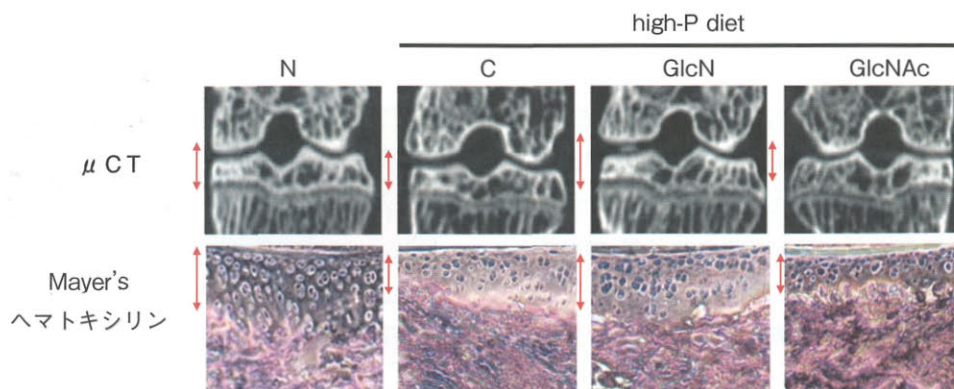
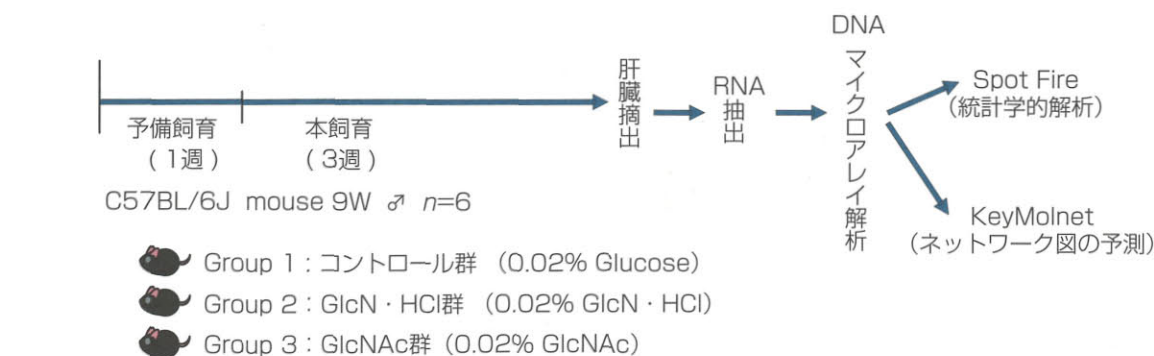


図9 グルコサミンが軟骨変性マウスの関節に与える影響



飼料組織

	C	GlcN	GlcNAc
Casein	200	200	200
Lard	58.3	58.3	58.3
Corn oil	11.7	11.7	11.7
AIN-93G Mineral mixture	35	35	35
AIN-93G Vitamin mixture	10	10	10
Sucrose	100	100	100
Cornstarch	531.8	531.8	531.8
Cellulose	50	50	50
L-cystine	3	3	3
Glucose	0.2	-	-
GlcN・HCl	-	0.2	-
GlcNAc	-	-	0.2
	1,000g	1,000g	1,000g

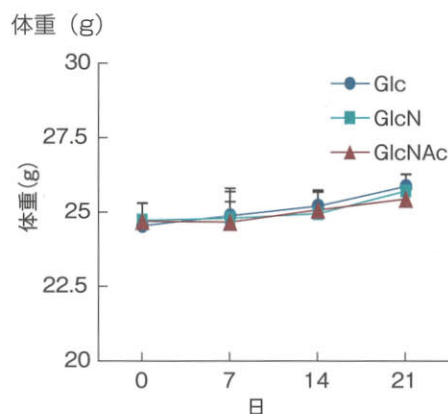


図 10 実験方法

違った変化であったという結果が出てきました。

皮膚でも同じことをしましたが、皮膚の場合は今度は逆転しているのです。グルコサミンとグルコースが似た変化で、N-アセチルグルコサミンが違う変化を示しています。どうも、肝臓での働きと皮膚での働きは違うということらしいのです。皮膚に関してはただ今解析中ですので、次回の研究会などで発表できればと思っています。

### グルコサミンと N-アセチルグルコサミンで共通して増加・減少した遺伝子

この結果をもっとわかりやすくしたものが、図 11 です。今回は肝臓で見えています。遺伝子の相対的な活性が 2 倍以上に上がったスポットを増加と判定して、0.5 以下になったスポットを遺伝子の発現強度が減少したと判定しました。

その結果、増加の場合、グルコサミンと N-アセチルグルコサミンの両者で共通して増加したスポット数が 1,814 個ありました。それに対して、N-アセチルグルコサミンでは動かず、グルコサミンだけで動いたものが 1,753 個ありました。N-アセチルグルコサミンだ

けで動いたものは 1,562 です。発現が上がったスポットが、グルコサミンでは 1,753 個、N-アセチルグルコサミンでは 1,562 個あったということです。

減少のほうを見ますと、共通して減少したものが 1,514 個あって、グルコサミンだけ減少したものが 3,220 個ありました。N-アセチルグルコサミンだけ減少したスポットの数は 2,663 個です。このような数字が出ましたが、これがどのような意味を表すのかを次に示します。

グルコサミンと N-アセチルグルコサミン共通で上がったもののなかで、特にわれわれが注目したのが

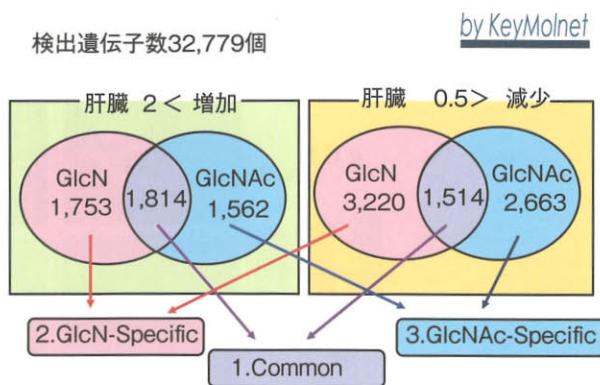


図 11



表1 Common GlcN ↑ and GlcNAc ↑

遺伝子名	GlcN/Glc	GlcNAc/Glc
deleted in azoospermia-like (Dazl)	47.9	88.6
aprotastic acid phosphatase mRNA (Acpp)	33.7	35.3
procollagen, type4, alpha3 binding protein (Col4a3bp)	13.1	27
glycoprotein hormones, alpha subunit (Cga)	14.9	13.8
glucagon-like peptide 1 receptor (Glp1r)	7.1	26.4
S100 calcium binding protein A3 (S100a3)	10.8	5.9
interleukin 7 (Il7)	7.4	6.1
transglutaminase 6 (TG6)	8.9	29.3
transglutaminase 4 (TG4)	3.4	3.7
Tachykinin (TAC2)	7.1	15.9
tissue inhibitor of metalloprotease 1 (TIMP1)	7.9	6.5
tissue inhibitor of metalloprotease 2 (TIMP2)	3.1	3.2
parathyroid hormone-like peptide (PTHlh)	7.6	5.8

表2 Common GlcN ↓ and GlcNAc ↓

遺伝子名	GlcN/Glc	GlcNAc/Glc
transforming growth factor, beta receptor3 (TGFB3)	0.16	0.08
Glycoprotein9 (GP9)	0.1	0.1
zinc finger protein, subfamily 1A, 1 (Ikzf1)	0.5	0.4
integrin, alphaE, epithelial-associated (Itgae)	0.4	0.4
laminin, beta 2 (Lamb2)	0.2	0.2
mitogen activated protein kinase 11 (Mapk11)	0.5	0.5
solute carrier family 8 (Slc8a3)	0.2	0.4
solute carrier family 22 member 3 (Slc22a3)	0.2	0.5
pre B-cell leukemia transcription factor 3 (Pbx3)	0.07	0.5
matrix metalloproteinase 11	0.4	0.4

tissue inhibitor of metalloprotease-1 (TIMP-1), です。マトリックスメタロプロテアーゼの阻害因子の活性が、実は共通で上がってくるということです(表1)。すなわち、軟骨基質の分解を抑制してくれるタンパク質が増加する可能性が示されています。

今度は共通して減少したものを見ると、TGF- $\beta$ 受容体というのがありました。それからもう一つ注目したいのは、matrix metalloprotease-2 (MMP-2) というプロテアーゼが減少していることです(表2)。

たとえばキチン・キトサンなどを皮膚につけると、経皮吸収性が上がったりするのですが、こういうのはグルコサミンがタイトジャンクションのイベントを上げるために起こる可能性があることがわかりました。それから長岡先生(順天堂大)がやっていたような血小板機能などでも出てきます。血小板機能にグルコサミンやN-アセチルグルコサミンの摂取が影響を与えるということも、示されたわけです。

これらの解析結果の一部をキーモルネットによって作図した代謝関連図で見てみると、N-アセチルグルコサミンもグルコサミンも、こういうMMPのインヒビターをたくさんつくらせることによって、MMPと

いったものを減少させ、関節病変の進行の抑制につながっているのではないかと、われわれは解釈しました。

### エストロゲンに関連する酵素や炎症を抑える酵素が、グルコサミンの制御を受けている

今度はグルコサミンだけで動くものについて注目したものを示します。非常におもしろかったのは、グルコサミンのみで上がってくるものに、ヒドロキシステロイド17 $\beta$ -デヒドロゲナーゼがあります。これはエストロゲンの濃度をコントロールする酵素です。こうした酵素が、実はグルコサミンによって制御を受けているという結果が出てきました。

それからもう一つはヒアルロン酸とプロテオグリカン・リンクプロテインIです。これはプロテオグリカンの糖鎖のところにタンパク源にくっつけるためのタンパク質なのですが、これが上がってきているということです。こういったところに注目しました(表3)。

それから低下した現象としては、TNFです。TNFのスーパーファミリーのいくつかの発現が、かなり減少しています。また、プロスタグランジンの受容体が

表3 GlcN-Specific

GlcN ↑ and GlcNAc →/↓

遺伝子名	GlcN/Glc	GlcNAc/Glc
hydroxysteroid (17-beta)dehydrogenase 3 (Hsd17b3)	2.27	0.4
hydroxysteroid (17-beta)dehydrogenase 1 (Hsd17b1)	4	0.5
proliferin related protein (Plfr)	7.3	1
cadherin23 (otocadherin)	3.1	0
interleukin 17 recptor B (Il17rb)	20.9	0.8
hyaluronan and proteoglycan link protein 1 (hapln1)	2.6	0.6
chemokine (C - X - Cmotif) receptor 4 (C xcr4)	5.6	0.8
FXYD- domain-containing ion transport regulator 5 (Rela)	3.8	0.9
ferredoxin reductase (FDXR)	3.1	0.8
transmembran receptor frizzled 5 (Fzd5)	3.8	0.9
vascular endothelial growth factor C (Vedfc)	2.9	1
RAP2B, member of RAS oncogene family (Rap2b)	36.4	0.3

表4 GlcN-Specific

GlcN ↓ and GlcNAc →/↑

遺伝子名	GlcN/Glc	GlcNAc/Glc
acetyl-Coenzyme A acetyltransferase 2(Acat2)	0.2	1.2
Aquaporin3 (Aqp3)	0.1	1.2
Tumor necrosis factor superfamily 7 (Tnfsf7)	0.1	1
Tumor necrosis factor superfamily 11 (Tnfsf11)	0.1	1.5
24-dehydrocholesterol reductase (Dhcr)	0.1	1.3
Prostaglandin E receptor (Pkn1)	0.4	0.9
Prostaglandin D receptor (Ptgdr)	0.1	1
Signal transducer and activation of transcription 2 (STAT2)	0.2	1.3
interleukin 15 (Il15)	0.1	1.1
24-dehydrocholesterol reductase (Dhcr)	0.1	1.3

かなり減少したり、STAT2やインターロイキン-15などが減少しています。これは炎症に関わるものばかりなのですが、グルコサミンによってそれら炎症に関与する遺伝子も低下してくるということで、グルコサミン投与によって痛みが減少したり炎症がおさまったりすることが、インフォマティクスのにはありえるということが証明されたということです（表4）。

今のところをまとめますと、エストロゲンの濃度を調節する遺伝子が、グルコサミンによって制御されている。変形性関節症は女性のほうがなりやすいという報告がありますが、グルコサミンの摂取によって血中のエストロゲン濃度を調節して関節症の進行を抑制する可能性もあるのではないのでしょうか。また、ひょっとするとグルコサミンの摂取によって、骨粗鬆症が抑制される可能性があるのではないかと、あるいは更年期障害の緩和なども、こういったものによってもたらされる可能性がある、ということです。

一つはComp(cartilage oligomeric matrix protein)、というのがあります。これは軟骨基質に関わるものですが、非常に上がってきます。今までわれわれの実験では、N-アセチルグルコサミンは軟骨では効かないというデータが出ていました。しかし、遺伝子解析的にはCompなどの基質の部分で、実はN-アセチルグルコサミンは関節炎に有効である可能性が出てきました。ですから、N-アセチルグルコサミンを摂取されている方でも、実際に体感的には関節に効くということが出てきているので、そういったことは一ついえるのではないかと思います。ただこれは、シグナル分子として働くというよりは基質に作用するのではないことです（表5）。

もう一つは線維芽細胞増殖因子（fibroblast growth factor, FGF）ですね。FGFのいくつかはかなり減少しています。これは肝臓でやっていますので、肝の線維化を抑制するということになりますが、もし皮膚でもこれが起きているとすれば、角化の抑制という可能性もある。そうしますと、摂取して肌がよくなるということが、ひょっとしたらあるのかもしれませんが。遺伝子的にはそういう結果が出ていますので、そういった実験を組むことで証明できる可能性はあるというこ

### グルコサミンなどには、細胞外基質代謝調節機能があるのではないかと？

N-セチルグルコサミンの場合に動くものとして、

表5 GlcNAc-Specific GlcNAc ↑ and GlcN →/↓

遺伝子名	GlcN/Glc	GlcNAc/Glc
actin, alpha2 (Acta2)	1	2.1
tumor necrosis factor receptor 18 (Tnfrsf18)	1.1	4.7
cartilage oligomeric matrix protein (Comp)	0.6	9.7
calcium transporter CAT2 homolog (Trpv5)	0.5	6.6
interleukin 1 receptor, type2 (Il1rs)	0.3	5.1
solute carrier family 22 (Slc22a4)	0.8	4.4
T-cell acute lymphocytic leukemia (Tal2)	0.7	4.2
tumor necrosis alpha induced protein 6 (Tnfaip6)	1.1	8.1

表6 Common GlcN ↓ and GlcNAc ↓

遺伝子名	GlcN/Glc	GlcNAc/Glc
complement component 3a receptor1 (C3ar1)	1.5	0.2
cadherin 3 (Cdh3)	1	0.4
cadherin 8 (Cdh8)	1	0.4
fibroblast growth factor 4 (Fgf4)	1.2	0.5
fibroblast growth factor 13 (Fgf13)	1.3	0.1
amylo-1,6-glucosidase, 4-alpha-glucotransferase (Agl)	2.5	0.2
glutamate receptor, ionotropic, laonate 1 (Grik1)	1.1	0.1
glutamate receptor, ionotropic, laonate 2 (Grik2)	0.8	0.5
integrin beta 4 transcript variant (itgb4)	1.1	0.1
intefrin, alpha E (itgae)	1.1	0.4
sodium/hydrogen exchanger (Slc9a2)	1.4	0.2
onocostain M receptor (Osmr)	1.6	0.1
neuropilin-2 (Nrp1)	0.9	0.5

とになります (表6)。

あとは、それに Wnt シグナル伝達系も動いています。Wnt は変形性関節症の関与などが今かなり報告されていますが、そういったことも関係しているということが出てきました。

また、N-アセチルグルコサミンで減少する複数の遺伝子の上流に E2F という転写調節因子が共通して出てくることもわかりました。

今までのことをまとめますと、特にグルコサミンで今回、発見できたことは、エストロゲン調節にかなり影響があるのではないかということです。それから N-アセチルグルコサミンでは、E2F が関与する生体イベントに影響を与える可能性がある。共通するものとしては、やはりこういう細胞外基質代謝調節機能があるのではないかということです (図12)。

今までいろいろ述べたグルコサミンのことは、この後、動物実験によってこれらのイベントを証明しなくてはいけないのですが、遺伝子の解析ということだけでいけば、いろいろなことがだいわかってきたということではないかと考えます。

### グルコサミンは関節だけでなく、骨の部分も改善する

最後に、われわれのところで、グルコサミンが骨の形成に本当に効くのかという実験をやりました。簡単にいえば OVX (卵巣摘出術) です。卵巣を摘出して骨粗鬆症にしたマウスに、グルコサミンと N-アセチルグルコサミンとグルコースを与えて比較しました。CT で骨を解析していった結果、どうなったかということです。血中の骨代謝のパラメーターには全然変化はありませんでした。

GlcN = GlcNAc and GlcN ≠ GlcNAc

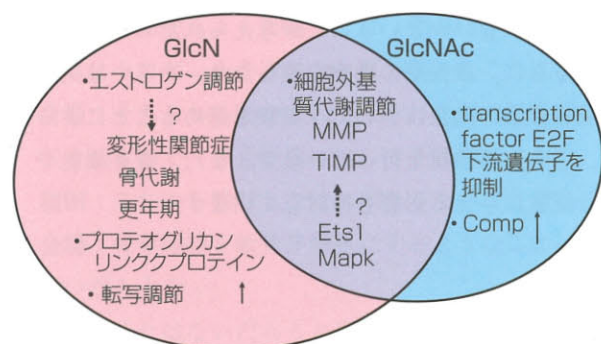


図12



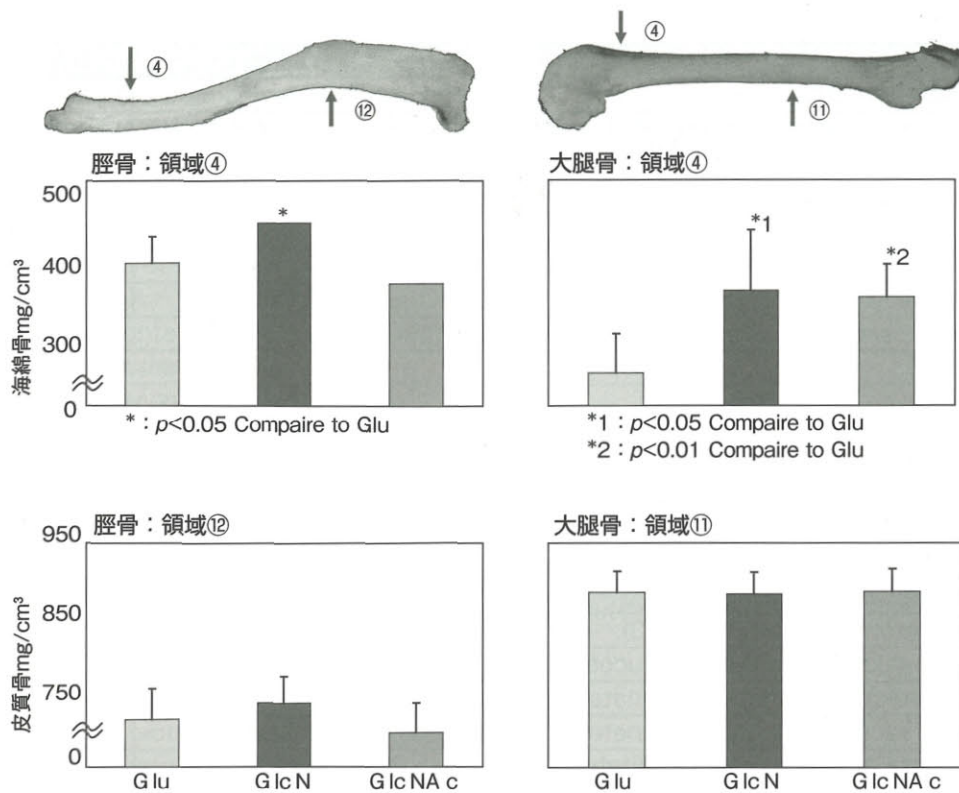


図 13 グルコサミンがマウス骨密度に与える影響

もう少しわかりやすい結果を図 13 に示しました。脛骨の領域④の位置でみると、グルコサミンを投与した群において海綿骨の骨密度が有意に増加していました。また、領域⑫のところで皮質骨の骨密度をみると、有意差はないものの、グルコサミンでは増加傾向でした。

骨密度を今度は大腿骨領域でみます。領域④のところで非常にグルコサミンが高い傾向であり、ここでは有意差が出ています。それから領域⑪のところでは、あまり変化がありません。真ん中のところではあまり変化がありません。両骨端のところで骨密度が上がるような状態です。

実はグルコサミンも、関節ばかりではなくて、骨の健康維持にもかなり関与しています。ですから、関節だけを治して、たとえば関節症がよくなるということではなくて、同時に軟骨下骨の部分もかなり改善しているのではないかと考えられたわけです。

今さらに、成長期の動物を使ったり、あるいは閉経後骨粗鬆症の効果について、実験を進めることによって、さらに再検討を行っています。また、骨芽細胞や破骨細胞に与える影響も検討しています。

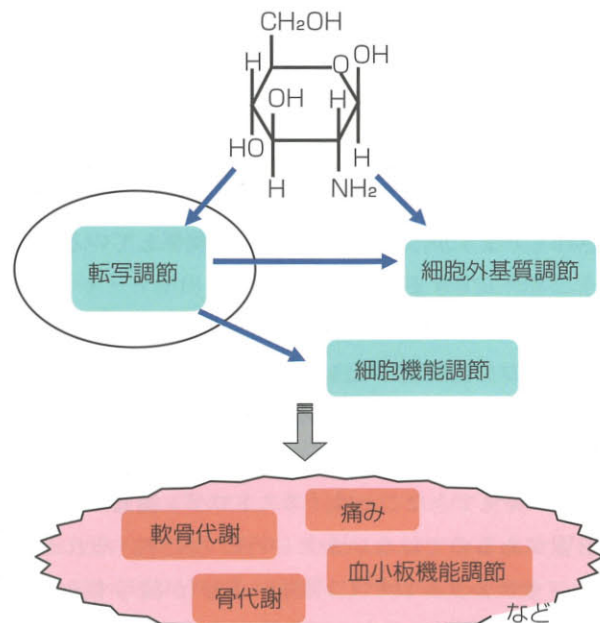


図 14 まとめ

### 遺伝子の解析により、調節因子、伝達物質として働く可能性がわかってきた

最後にまとめます。われわれはグルコサミンの働きを、基質として考えていた部分がやはりあるのですが、実は転写調節ということを経たシグナル分子として、どうもさまざまな生体イベントに働きかけてい

るのではないかと考えています。

実は、関節細胞外基質の部分的な分解物が、シグナル分子としてリサイクルされて働くという可能性があるのです。これは植物ではよくやっていることなのですが、動物でもそういうことがあるんだなあというのが一つのヒントになりました。そういった理由でグルコサミンは基質だけではなくて、薄い濃度でも効いて、細胞の調節因子、伝達物質として効果があるという可能性が、遺伝子の解析によって少しわかってきたということです (図 14)。

今後こういったことを、今度は *in vivo* で証明しなければいけません。遺伝子の解析だけでもものを語ることはできませんので、動物実験などを通じて、こういったイベントの検証をしてみたいと思います。以上でございます。

### 【質疑応答】



講師：和田 先生



座長：長岡教授

座長 (長岡)：和田先生ありがとうございました。和田先生は *in vitro* の仕事から、さらには DNA マイクロアレイ解析でいろいろお仕事をされて、さらに *in vivo* に戻ってということで、非常に多岐にわたって従来の細胞外基質の供給だけではなく、いろいろな転写調節、細胞機能調節に働いているという新たな働きについてお話をいただきました。会場からご質問がありましたらお受けしますので、どうぞ気軽に質問していただければと思います。

では、みなさんが考えておられる間に私のほうから…。私のところでも、従来の細胞外基質、軟骨だけではなくて、血小板や白血球などでもやっていましたが、やはり私たちの細胞でもグルコサミンと N-アセチルグルコサミンでは、どうしても効き方がちょっと違ってきます。いろいろなサイトカインでもメッセージレベルでも、やはり効き方が違ってきます。そういったところまでは行っていたんですけど、先生のお仕事を拝見しますと、もっと網羅的にやられて、転写レベルでもかなり違うということを証明されておられます。私たちが発表していたことも、ある意味では正しかったのかなあと思い、先生のお話を非常に興味深く

聞かせていただきました。

データをすべてお出しできませんし、われわれが見てもなかなかわからないかもしれませんけれど、先生のご発表のなかに新たなターゲットというのが、宝の山みたいに実はあるわけですね。従来われわれは、歴史的には軟骨、あるいは白血球、血小板など、一つずつやっていますが、転写因子から見ると、いろいろな未知の、あるいは見逃しているものがまだあるかもしれませんね。どうしても軟骨から始まっていますので、OA に対してどうこうということにずっと着目して評価していますが、他の疾患をからめると、実は効果が出てくる、などという夢もあるわけです。いかがでしょうか、みなさん。

会場：大変詳細なご研究と、臨床につながるお話をうかがえて非常にわかりやすいご発表でした。遺伝子なんてとてもついていけないと思っていたのですが、これはやってみたいという勇気が湧くご発表を、ありがとうございました。肝臓で調べられているわけですが、グルコサミンを飲ませたときに、間葉系細胞の分化的な遺伝子がどうなるのでしょうか。結果として軟骨ができてくるという、実験的にはそういうこともあるものですから、そのへんは肝臓からはちょっと推察できないということでしょうか？

和田：そうですね。推察をしてしまうと、いろいろ危ない部分があると思うのですが。

会場：私は臨床もやっているものですから、骨折の治療にグルコサミンを飲ませるべきかどうかというのを非常に迷っておりまして、実は軟骨損傷を与えるとアセチルと比べると軟骨の出来方が非常に激しいんですね。骨折の治療をしてグルコサミンを投与して、そこに軟骨ができたなら非常に困るのです。今のお話ですと、エストロゲンを介した形で骨粗鬆症のブロックにいくのではないかとということですから、骨折の治療にも使えるのではないのでしょうか。軟骨のほうに効くのと骨というところが違うようにも感じますが…。

和田：そうですね、おそらく軟骨における作用と骨における作用がちょっと違う。で、骨のほうはあくまでもエストロゲンを介しないとダメということになる。

会場：そちらから動かすので、それは別のほうで動いてくれるので、骨芽細胞に対してそれは…。

和田：これから検討しなければならないことだと…。

会場：骨芽細胞を軟骨芽細胞にするようなことはやらないだろうと…。

和田：それはないだろうと思いますが…。

会場：骨の構造のところで関節軟骨があって、その下

に軟骨下骨がありますよね。結局、関節軟骨には血管も何もないわけですから、軟骨を形成している軟骨細胞というものはずっと成熟してから死ぬまで生きているわけではなくて死んでいきますよね。そうすると正常な段階においてどうやってそれは補給されていくのかという、あまり報告ありませんし…。全体的な話としては関節液から栄養がいくという話で、軟骨下骨から供給されるという話はほとんどありません。そのへんのところも何らかの形で、どういうふうに補給しているのか。たとえば、下から行くとしたと、下には骨芽細胞しかもうない。そうしますと、骨芽細胞がある時期において軟骨芽細胞になって補給していかないと、上のほうはできないような気がするのですが…。

和田：そのへんはちょっと難しい点かと…。

会場：そのへんのところがわかってきますと、いわゆる変形性関節症になった方も飲むと、軟骨がもう一度できる可能性がありますよという話につながっていくのではないかと思います。本当にありがとうございます。

座長：そのほかいかがでしょうか。いらっしゃらないようなので、懇親会の時に、和田先生に気軽にご質問していただければと思います。

## 【和田政裕 プロフィール】

東京農業大学を卒業後、昭和 62 年同大学院農芸化学専攻博士課程修了。助手、講師を経て、平成 9 年同大学応用生物科学部栄養科学科助教授、同 13 年城西大学薬学部医療栄養学科教授、同 18 年に同大学薬学部薬科学科の教授を併任し、現在に至る。農学博士。

専門は食品機能学、機能性食品設計論、機能性食品の効果効能評価など。食品・食品成分による生活習慣病の予防・治療補助に関する研究、DNA マイクロアレイを用いた機能性食品素材の有効性の評価の研究などを幅広く研究。日本食物繊維学会、日本キチン・キトサン学会、日本栄養食糧学会、日本栄養改善学会、日本病態栄養学会、日本フードファクター学会など、多数の学会の理事や評議員を務めている。また、厚生労働省の薬事・食品衛生審議会の専門委員として特定保健用食品などについても詳しい。